

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕДУЦИРУЮЩИХ САХАРОВ, ПОЛУЧЕННЫХ В РЕЗУЛЬТАТЕ ГИДРОЛИЗА КСИЛАНА ИММОБИЛИЗИРОВАННЫМ ФЕРМЕНТОМ КСИЛАЗОЙ

Лизунова Е.Е., Лежнева М.Д., Тамбасова Д.П., Ковалева Е.Г.

Уральский федеральный университет
620002, г. Екатеринбург, ул. Мира, д. 19

В работе проведен гидролиз ксилана ксиланазой, иммобилизированной на γ - Al_2O_3 со спектрофотометрическим определением редуцирующих сахаров по содержанию ксилозы. Подобраны оптимальные условия для многократного использования фермента в последовательных каталитических реакциях.

Для иммобилизации использовали γ - Al_2O_3 с удельной поверхностью 204 м²/г и со средним диаметром частиц 2,60 мкм. Электроповерхностные свойства были охарактеризованы методом ЭПР с помощью спиновых зондов - рН-чувствительных нитрокислых радикалов.

Проведено 4 цикла реакции каталитического разложения ксилана, в которых повторно использовалась ксиланаза, закрепленная на носителе – порошке гамма оксида алюминия при помощи физической адсорбции и с помощью сшивающего агента – глутарового альдегида. Определение ксиланазной активности и образовавшихся продуктов гидролиза осуществлялось по методике, основанной на количественном определении редуцирующих (восстанавливающих) сахаров, образующихся при действии фермента ксиланазы на β – 1,4 связи ксилана при определении в стандартных условиях ($T = 50^\circ\text{C}$, $\text{pH} = 7$, продолжительность гидролиза – 10 минут). Содержание редуцирующих сахаров определяли колориметрическим методом с ДНС-реактивом при длине волны 540 нм и рассчитывали по градуировочному графику, построенному для ксилозы. Обнаружено, что оптическая плотность раствора после проведения гидролитической реакции выше при ковалентном связывании с помощью глутарового альдегида ($D = 0,31$), чем при иммобилизации посредством физической адсорбции ($D = 0,22$), что обусловлено большим выходом иммобилизации (66,2 %), по сравнению со случаем физической адсорбции (47,9 %). Концентрации ксилозы при найденных значениях оптической плотности составили 4,7 мкмоль/мл и 3,4 мкмоль/мл, соответственно. Было найдено, что ковалентно-иммобилизованная ксиланаза в течение первых 2-х циклов не теряет своей активности, на 3-м цикле сохраняет до 71% активности, в то время как ксиланаза, иммобилизованная адсорбционно, на 3-м цикле теряет половину своей активности.

Полученные данные свидетельствуют о том, что порошки γ - Al_2O_3 являются перспективными носителями для иммобилизации ксиланазы для эффективного гидролиза ксилана с определением ее (ксиланазы) активности по содержанию образовавшейся ксилозы спектрофотометрическим методом.